



**Universidad de Cuenca**  
**Facultad de Ciencias Químicas**  
**Carrera de Bioquímica y Farmacia**

**“Extractos orgánicos de *Chenopodium ambrosioides* (paico), *Artemisia absinthium* (ajenjo), *Ocimum basilicum* (albahaca) y *Peperomia inaequifolia* (congona) como agentes antiamebianos.”**

Trabajo de titulación previo a  
la obtención del Título de  
Bioquímico Farmacéutico

**Autor:**

José Eugenio Quillay Cuji  
C.I. 0105002877

**Directora:**

Mst. Sonia Amayra Goercke Torres  
C.I. 0102155280

**Asesora:**

PhD. María Elena Cazar Ramírez  
C.I. 0602243800

Cuenca - Ecuador  
Junio, 2018



## RESUMEN

En el presente proyecto se evaluó el potencial de extractos orgánicos de *Chenopodium ambrosioides* (paico), *Artemisia absinthium* (ajenjo), *Ocimum basilicum* (albahaca), *Peperomia inaequalifolia* (congoná), como fuente de metabolitos secundarios antiamebianos.

Se planteó como objetivo estandarizar un bioensayo para evaluar la actividad antiamebiana “*in vitro*” de sustratos de origen natural y comparar con la acción de fármacos de referencia, adecuado a las condiciones del Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Cuenca.

El parásito objetivo, *Entamoeba histolytica*, fue aislado de muestras fecales humanas y mantenido viable en caldo de Diamond que es eficaz para mantener este tipo de parásitos. La evaluación del ensayo se realizó mediante tinción de las colonias con Eosina al 0,01%, contabilizando los parásitos vivos y muertos.

Se monitoreó el mantenimiento y viabilidad de las amebas durante 24, 48 y 72 horas. Los parásitos sobrevivientes fueron sometidos a diversas concentraciones de extractos vegetales con la finalidad de conocer la eficacia antiamebiana de la misma.

Los resultados obtenidos permitieron contar con una técnica para evaluar productos naturales con potencial antiamebiano y señalar aquellas especies vegetales con actividad para ser incluidas en futuros estudios de identificación de principios activos antiamebianos.

**Palabras clave:** ANTIAMEBIANOS, EXTRACTOS VEGETALES, BIOENSAYO, *ENTAMOEBIA HISTOLYTICA*





## ABSTRACT

In the present project, the potential of organic extracts of *Chenopodium ambrosioides* (paico), *Artemisia absinthium* (ajenjo), *Ocimum basilicum* (albahaca), *Peperomia inaequalifolia* (congona), were assessed as a source of secondary metabolites anti-amoebic was evaluated.

The aim was to standardize a bioassay to evaluate the anti-amoebic activity "*in vitro*" of substrates of natural origin, comparing its bioactivity with the effect of reference drugs. The experimental work was performed at the Parasitology Laboratory of the Faculty of Chemical Sciences of the University of Cuenca.

The target parasite, *Entamoeba histolytica*, was isolated from human stool samples and maintained in Diamond medium. The evaluation of the test was performed by staining with 0.01% Eosin, and then counting the live and dead parasites.

Amoeba maintenance and viability were monitored for 24, 48 and 72 hours. The surviving parasites were subjected to various concentrations of plant extracts in order to assess the anti-amoebic efficacy.

The results obtained allowed develop a technique to evaluate natural products with anti-amoebic potential and to identify potential plant species with active anti-amoebic to be included in future studies.

**Keywords:** ANTI-AMOEBIC, PLANT EXTRACTS, BIOASSAY, *ENTAMOEBIA HISTOLYTICA*





## ÍNDICE

RESUMEN .....	2
ABSTRACT .....	3
AGRADECIMIENTOS .....	9
DEDICATORIA.....	10
INTRODUCCIÓN .....	11
HIPÓTESIS.....	12
OBJETIVOS GENERAL Y ESPECÍFICOS .....	12
OBJETIVO GENERAL.....	12
OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	12
CAPÍTULO 1 .....	14
MARCO TEÓRICO .....	14
1.1 GENERALIDADES DEL PARASITISMO .....	14
1.2 AMEBIASIS: DESCRIPCIÓN Y CLASIFICACIÓN DEL PATÓGENO .....	14
1.2.1 CICLO BIOLÓGICO Y ULTRAESTRUCTURA .....	15
1.2.2 PATOGENIA DE LA AMEBIASIS .....	18
1.2.3 MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LA AMEBIASIS .....	19
1.2.4 PREVALENCIA Y TRANSMISIÓN DE LA AMEBIASIS .....	20
1.2.5 TRANSMISIÓN.....	21
1.2.6 DIAGNÓSTICO DE LA AMEBIASIS .....	22
1.2.7 TRATAMIENTO DE AMEBIASIS.....	22
1.3 PRODUCTOS NATURALES CON ACTIVIDAD ANTIPARASITARIA.....	23
1.3.1 EVALUACIÓN DE EXTRACTOS VEGETALES COMO AGENTES ANTIAMEBIANOS .....	24
1.4 OBTENCIÓN DE EXTRACTOS VEGETALES POR EL MÉTODO SOXHLET .....	24
1.4.1 DESCRIPCIÓN DEL EQUIPO DE EXTRACCIÓN.....	24



1.4.2 SOLVENTES UTILIZADOS EN EXTRACCIÓN POR MÉTODO SOXHLET.....	25
1.5 PLANTAS SUJETO DE ESTUDIO.....	26
1.5.1 Paico.....	26
1.5.2 Ajenjo.....	27
1.5.3 Albahaca.....	27
1.5.4 Congona .....	28
CAPÍTULO 2 .....	30
METODOLOGÍA .....	30
2.1 MODALIDAD DE LA INVESTIGACIÓN .....	30
2.2 TIPO DE INVESTIGACIÓN .....	30
2.3 MUESTRA .....	30
2.4 VARIABLES.....	30
2.5 AISLAMIENTO Y CULTIVO DE <i>ENTAMOEBIA HISTOLYTICA</i> .....	31
2.5.1 BIOENSAYO DE ACTIVIDAD ANTIAMEBIANA .....	31
2.5.2 INTERPRETACIÓN DEL BIOENSAYO .....	32
CAPÍTULO 3 .....	33
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	33
3.1 RENDIMIENTO DE EXTRACTOS VEGETALES.....	33
3.2 EXTRACTOS VEGETALES CON ACTIVIDAD ANTIAMEBIANA .....	34
3.3 TESTIGOS FARMACOLÓGICOS CON ACTIVIDAD ANTIAMEBIANA ..	35
3.4 DISCUSIÓN .....	36
CONCLUSIONES .....	40
RECOMENDACIONES .....	42
BIBLIOGRAFÍA .....	43
ANEXOS .....	48



ANEXO 1. PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO (CALDO DE DIAMOND).....	48
ANEXO 2. CÁLCULO DE CONCENTRACIONES .....	49
EN EXTRACTOS VEGETALES .....	49
EN TESTIGOS FARMACOLÓGICOS .....	49
ANEXO 3. LECTURA DE RESULTADOS .....	52
Primera repetición .....	52
Segunda Repetición .....	55
ANEXO 4. GALERÍA FOTOGRÁFICA.....	58
Fotografía 1. Hojas de Albahaca .....	58
Fotografía 2. Hojas de Congona.....	58
Fotografía 3. Hojas de Paico .....	59
Fotografía 4. Hojas de Ajenjo .....	59
Fotografía 5. Equipo de Extracción Soxhlet.....	60
Fotografía 6. Extractos vegetales obtenidos por método Soxhlet.....	60
Fotografía 7. Medio de Cultivo Diamond.....	61
Fotografía 8. Suero sanguíneo .....	61
Fotografía 9. Cultivo de amebas luego de incubar 24 horas.....	62
Fotografía 10. Extractos en diferentes concentraciones .....	62
Fotografía 11. Testigos farmacológicos en diferentes concentraciones .....	63
Fotografía 12. Ensayos antiamebianos.....	63
Fotografía 13. Eosina al 0,01%.....	64
Observación realizada en el bioensayo .....	64



Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio  
Institucional

---

JOSE EUGENIO QUILLAY CUJI, en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación **“EXTRACTOS ORGÁNICOS DE *CHENOPODIUM AMBROSIODES* (PAICO), *ARTEMISIA ABSINTHIUM* (AJENJO), *OCIMUM BASILICUM* (ALBAHACA) Y *PEPEROMIA INAEQUIAFOLIA* (CONGONA) COMO AGENTES ANTIAMEBIANOS”**, de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Así mismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, Mayo de 2018

JOSE EUGENIO QUILLAY CUJI

CI: 0105002877



Cláusula de Propiedad Intelectual

---

JOSE EUGENIO QUILLAY CUJI, autor del trabajo de titulación "EXTRACTOS ORGÁNICOS DE *CHENOPODIUM AMBROSIoidES* (PAICO), *ARTEMISIA ABSINTHIUM* (AJENJO), *OCIMUM BASILICUM* (ALBAHACA) Y *PEPEROMIA INAEQUIAFOLIA* (CONGONA) COMO AGENTES ANTIAMEBIANOS", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, Mayo de 2018

JOSE EUGENIO QUILLAY CUJI

CI: 0105002877





## AGRADECIMIENTOS

A Dios por guiarme y bendecirme durante este largo camino, demostrándome que el esfuerzo, constancia y sacrificio siempre tiene su recompensa. A mis amigos y familiares quienes me alentaron a seguir adelante y a no rendirme hasta cumplir las metas deseadas.

De igual manera un agradecimiento muy especial a mi directora la Dra. Sonia Goercke Torres por su valioso apoyo, orientación, ánimo y conocimientos para la realización de esta tesis. A mi asesora PhD. María Elena Cazar Ramírez por su apoyo constante, dedicación, conocimientos y paciencia, ganándose mi respeto y admiración.

A la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Cuenca quien me abrió sus puertas durante estos años de estudio, donde tuve la oportunidad de prepararme y formarme académicamente a través de sus docentes y maestros quienes me impartieron sus sabios consejos y enseñanzas.

**José Quillay C.**



## DEDICATORIA

A mis padres aunque ya no estén presentes, sé que desde el cielo siempre están guiándome y dándome la fortaleza necesaria para seguir adelante, superando los obstáculos y a no rendirme hasta cumplir los sueños.

A mi hermana Patricia quien me apoyo en todo momento de manera incondicional, sin su aporte no hubiera sido posible terminar esta meta tan anhelada.

A mis tíos y demás familiares quienes siempre estuvieron en las buenas y en las malas con sus sabios consejos, permitiéndome salir adelante.

**José Quillay C.**



## INTRODUCCIÓN

La parasitosis intestinal se asocia a infestaciones producidas por parásitos cuyo hábitat natural es el aparato digestivo de las personas; esto se considera un problema de salud pública en países subdesarrollados ya que muchos de estos sufren deterioro socioeconómico que se refleja en el estado de salud de la población. (Vinuela, 2014).

Ecuador tiene una elevada incidencia de parasitosis, la cual afecta al 80% de la población rural y al 20 % en el área urbana. (Pérez, Andrade, López, Carranza, & Muro, 2013).

La amebiasis se define como la infección causada por *Entamoeba histolytica*, un parásito protozario que puede vivir en el intestino grueso o invadir la mucosa intestinal, causando lesiones y diseminándose a diferentes órganos. (Botero & Restrepo, 2012; Gallego, Gómez, Torres, & Lora, 2003). Este parásito tiene una distribución mundial y afecta predominantemente a individuos de nivel socioeconómico bajo, que viven en países en desarrollo. (Haque, Chritopher, Hughes, Houpt, & Petri, 2003). Sin el tratamiento adecuado, esta enfermedad da lugar a complicaciones potencialmente fatales, como absceso hepático, absceso cerebral, peritonitis, amebiasis mediastino-pericárdica y amebiasis pleuropulmonar, lo que representa un problema de salud pública. (Mora, García, & De Donato, 2005).

La elevada incidencia y relevancia clínica de esta parasitosis requiere el desarrollo de nuevos antiamebianos a partir de productos naturales. La medicina convencional no ha generado nuevos productos antiparasitarios en los últimos años, y la mayoría de los microorganismos han desarrollado fármaco-resistencia. (Ramírez & Moran, 2013).

El medicamento más eficaz y de uso común para el tratamiento de la infección protozoaria intestinal es el metronidazol. Sin embargo, se ha informado que este medicamento tiene efectos secundarios desagradables como sabor metálico, dolor de cabeza, sequedad de boca, náuseas, glositis, urticaria y



prurito. Por lo tanto, la búsqueda de compuestos antiamebianos alternativos con alta actividad, baja toxicidad, más barato y más eficaz sigue siendo un objetivo necesario. (Sharma & Sharma, 2001).

Las plantas y sus extractos han sido usados por siglos como tratamiento de enfermedades, desde dolores de cabeza hasta parasitosis. Solo en los últimos 20 a 30 años, los científicos han determinado si los remedios tradicionales derivados de plantas son efectivos, y de ser así, su modo de acción. (Antony, Fyfe, & Smith, 2005).

El presente estudio se planteó para apoyar el desarrollo de nuevas fórmulas farmacéuticas con principios activos a partir de extractos de plantas medicinales; para lo cual se evaluó el potencial de especies de plantas con usos tradicionales como antiparasitarios.

Mediante un ensayo “*in vitro*” se evaluó si los extractos obtenidos a partir de las plantas medicinales seleccionadas presentan actividad antiparasitaria. Los resultados obtenidos permitieron identificar especies vegetales productoras de metabolitos secundarios antiamebianos.

## **HIPÓTESIS**

Los extractos de *Chenopodium ambrosioides* (paico), *Artemisia absinthium* (ajenjo), *Ocimum basilicum* (albahaca), *Peperomia inaequalifolia* (congoná) poseen acción antiparasitaria frente a *Entamoeba histolytica*.

## **OBJETIVOS GENERAL Y ESPECÍFICOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

- Valorar la acción antiparasitaria de extractos obtenidos de *Chenopodium ambrosioides* (paico), *Artemisia absinthium* (ajenjo), *Ocimum basilicum* (albahaca) y *Peperomia inaequalifolia* (congoná) frente a *Entamoeba histolytica*.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Estandarizar un bioensayo “*in vitro*” para evaluar el potencial de sustancias de origen natural como antiamebianos.



- Evaluar la actividad antiamebiana de los extractos obtenidos de las plantas en estudio.
- Identificar los extractos más promisorios por su acción antiparasitaria frente a *E. histolytica*



## CAPÍTULO 1

### MARCO TEÓRICO

#### 1.1 GENERALIDADES DEL PARASITISMO

Se designa como parásito a aquel organismo que, con el fin de alimentarse, reproducirse o completar su ciclo vital, se aloja en otro ser vivo de forma permanente o temporal, produciendo en él ciertas reacciones. El parásito que se localiza en el hospedero no aporta ninguna compensación, sino que vive a partir de su sustancia corporal, lo cual ocasiona perjuicio alguno. Sin embargo, se puede recalcar de una acción patógena de un parásito cuando éste es capaz de producir alteraciones. (Torres, 2010).

#### 1.2 AMEBIASIS: DESCRIPCIÓN Y CLASIFICACIÓN DEL PATÓGENO

La amebiasis es una infección ocasionada por *Entamoeba histolytica* o *Entamoeba dispar* que no produce síntomas en 90% de los individuos afectados. La infección se localiza en la mucosa del intestino grueso, donde sólo la especie *E. histolytica* y, en particular, las cepas invasoras dañan el tejido y ocasionan enfermedades intestinales o extraintestinales que afectan otros órganos. Es responsable de unas 100.000 muertes al año, siendo la segunda causa de mortalidad por parásitos protozoarios después de la malaria. Su distribución es mundial, especialmente prevalente en zonas tropicales y subtropicales con condiciones higiénico-sanitarias deficientes. (Aguilera, Barry, & Tovar, 2007).

**Tabla 1.** Clasificación del patógeno

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA	
Reino	Protista
Filo	Amoebozoa
Clase	Sarcodina
Orden	Amoebida
Familia	Entamoebidae
Género	<i>Entamoeba</i> <i>Iodamoeba</i>
Especie	<i>E. Histolytica</i> , <i>E. dispar</i> , <i>E. coli</i> , <i>I. butschlii</i>

(Botero & Restrepo, 2012).

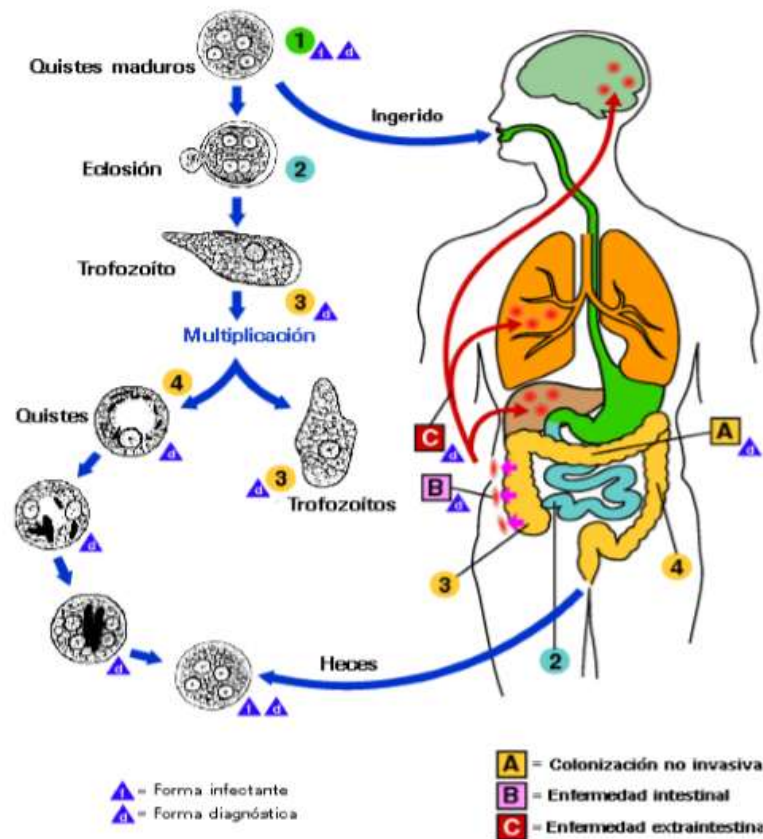
### 1.2.1 CICLO BIOLÓGICO Y ULTRAESTRUCTURA

#### 1.2.1.1 Ciclo biológico

El hombre es el principal reservorio de *E. histolytica*. La vía de transmisión es fecal-oral. El quiste, que es la forma infectante, se elimina por las heces contaminando el agua, los alimentos y transmitiendo la infección de persona a persona.

El ciclo biológico de *E. histolytica* es directo. El hombre se infecta por la ingestión de los quistes maduros que atraviesan el estómago, donde sufren la acción de los jugos gástricos. La ruptura del quiste tiene lugar en la región del íleon terminal o en el colon, dando origen a los trofozoítos. (Fernández, 2004).





**Figura 1.** Ciclo de vida de *Entamoeba histolytica* (Center for Disease Control and Prevention, 2014).

En el comienzo de su formación estos conservan el mismo número de núcleos de los quistes, cada núcleo se divide en dos y resulta un trofozoíto con ocho núcleos. En el colon cada uno de estos ocho núcleos se rodea de una porción de citoplasma, formando ocho trofozoítos. Los trofozoítos son móviles y se adhieren e invaden la mucosa intestinal, donde se multiplican por fisión binaria, continuando su ciclo biológico. En la luz del intestino, los trofozoítos eliminan las vacuolas alimenticias, se inmovilizan y se transforman en prequistes, mediante la adquisición de una cubierta, para posteriormente, convertirse en quistes inmaduros con un núcleo. Finalmente, estas estructuras se transforman en el quiste maduro tetranucleado. Los trofozoítos son rápidamente destruidos en el medio ambiente mientras que los quistes pueden permanecer fuera del hospedador semanas o meses, dependiendo principalmente de las condiciones



de humedad, aunque pueden destruirse a temperaturas extremas ( $-5^{\circ}$  y  $40^{\circ}$ ). (Aguilera et al., 2007; Fernández, 2004).

#### 1.2.1.2 Trofozoíto

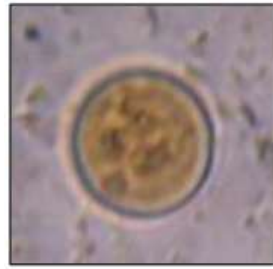
El tamaño de la célula varía entre 12 y 60  $\mu\text{m}$ , debido no solamente al pleomorfismo del parásito, sino también por el origen de aislamiento de la ameba. En las heces diarreicas o lesiones hepáticas, generalmente, el tamaño es más grande (20  $\mu\text{m}$  – 40  $\mu\text{m}$ ) que en las heces no diarreicas y cultivos (10  $\mu\text{m}$  – 30  $\mu\text{m}$ ). Tienen un único núcleo con cromatina periférica uniforme y cariosoma puntiforme localizado en el centro. El citoplasma de *E. histolytica* puede contener eritrocitos fagocitados, propiedad que sirve para diferenciarla de *E. dispar*. (Ramirez & Moran, 2013).



**Figura 2.** Trofozoíto *E. histolytica* (Atias, 2001).

#### 1.2.1.3 Quiste

Los quistes inmaduros, pueden tener de uno a cuatro núcleos. Contienen glucógeno y agregados de ribosomas, llamados cuerpos cromatoides, que presentan forma de barra con los extremos redondeados. Los quistes maduros tienen cuatro núcleos y miden alrededor de 10 a 20  $\mu\text{m}$ , el glucógeno desaparece y los cuerpos cromatoides pueden estar ausentes. (Aguilera et al., 2007).



**Figura 3.** Quiste *E. histolytica* (Atias, 2001).

### 1.2.2 PATOGENIA DE LA AMEBIASIS

Aproximadamente el 10 % de las personas que presentan *E. histolytica* en el colon son sintomáticas. El resto se consideran portadoras sanas. No todos los que tengan la especie patógena presentan enfermedad, pues ésta depende de la interacción entre la virulencia del parásito y las defensas del huésped. La invasión a la mucosa se produce por el contacto físico de los trofozoítos con las células de la mucosa del colon, es seguido por la acción de una lectina de adherencia o adhesina, con gran afinidad por la galactosa, la cual es abundante en las células del colon. Esta galactosa inhibe la adhesina. (Cardona, Combariza, & Reveiz, 2004).

La penetración a la mucosa es favorecida por un péptido que forma poros y lisa las células, y por proteasas que destruyen el tejido. Los neutrófilos que se han acumulado en los puntos de penetración son destruidos por la actividad de la lectina del parásito, y al romperse liberan enzimas que contribuyen a la lisis celular. (Fernández, 2004).

En la formación de úlceras, los trofozoítos se abren paso entre las células de la mucosa, mediante una colagenasa que destruye los puentes intercelulares. Los colonocitos son inducidos a presentar autólisis, la matriz extra celular se degrada y las amebas pasan de la mucosa a la submucosa. En esta lucha entre los parásitos y el huésped, un buen número de amebas muere, y liberan otras enzimas como hialuronidasa y gelatinasa, lo que unido a la isquemia y a la trombosis, permite la extensión lateral de las lesiones en la submucosa, para dar origen a las úlceras en botón de camisa. Hay una pobre respuesta inflamatoria debida a la destrucción de los neutrófilos macrófagos y eritrocitos por *E. histolytica*. Solo se observa un infiltrado linfoplasmocitario escaso. La



necrosis que se presenta en la base de las úlceras, permite que éstas se extiendan y den origen a lesiones mayores, que en los casos muy graves cubren gran parte del colon y dan origen a las formas necróticas fulminantes, a veces asociadas a perforación intestinal. (Botero & Restrepo, 2012).

### **1.2.3 MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LA AMEBIASIS**

#### **1.2.3.1 Amebiasis asintomática**

Esta forma de amebiasis no invasiva, se diagnostica por medio del examen coprológico, que generalmente revela únicamente quistes. Estos portadores sanos representan un gran papel desde el punto de vista epidemiológico, pues son la principal fuente de diseminación de la infección. La ausencia de síntomas se explica porque los parásitos viven en la luz del colon y no invaden la mucosa. (Ramirez & Moran, 2013).

#### **1.2.3.2 Amebiasis intestinal invasiva**

Se presenta cuando hay invasión de los trofozoítos a la pared del colon, con producción de lesiones. Puede tener dos formas, crónica y aguda.

##### **- Amebiasis crónica o colitis amebiana no disentérica**

Aquella en la cual hay síntomas de colitis, pero no se presenta el cuadro disentérico. Está caracterizada por dolor abdominal, cambios en el ritmo de la defecación, principalmente diarrea, presencia ocasional de moco y rara vez de sangre en las heces. El pujo y tenesmo (descritos en la amebiasis aguda), pueden presentarse en forma leve y no son tan frecuentes como en la amebiasis aguda. También puede presentarse llenura postprandial, náuseas, distensión abdominal, flatulencia y borborigmos. Al examen físico se palpa el marco del colon doloroso y el sigmoides espástico. (Gallego et al., 2003).

Las heces son blandas, pastosas o líquidas, a veces fermentadas y muy fétidas. En las etapas de estreñimiento el examen coprológico revela quistes y en las etapas diarreicas trofozoítos y a veces también quistes. (Reyes, 2012).

##### **- Amebiasis aguda o colitis amebiana disentérica.**

Tiene como principal síntoma la presencia de gran número de evacuaciones intestinales, al principio son abundantes y blandas, luego de menor volumen



con moco y sangre. El paciente experimenta necesidad de defecar con mucho esfuerzo, lo que constituye el síntoma llamado pujo. La cantidad de materia fecal eliminada es cada vez más pequeña, y al final se elimina sólo una poca cantidad de moco sanguinolento, el cual se ha llamado esputo rectal. También se observa tenesmo, dolor abdominal intermitente, en forma de retortijón, de aparición brusca y desaparición rápida, localizado en cualquier punto del marco cólico. El número de evacuaciones diarias es muy variable, generalmente seis o más. La materia fecal contiene trofozoítos hematófagos, principalmente en el moco, y los leucocitos son escasos, a diferencia de la disentería bacilar. En la endoscopía se observan ulceraciones de la mucosa. (Lacoste, Rosado, Nuñez, & Rodriguez, 2012; Gallego et al., 2003).

En pacientes desnutridos, principalmente niños, en los cuales la disentería se ha prolongado por muchos días, se puede observar atonía de los músculos perineales y relajación del esfínter anal acompañada de rectitis, lo cual puede dar origen a prolapso rectal. (Lacoste et al., 2012).

#### **1.2.3.3 Colitis amebiana fulminante.**

Corresponde a una amebiasis hiperaguda, o forma gangrenosa, con sintomatología mucho más intensa, principalmente dolor abdominal, diarrea, tenesmo, vómito, anorexia y enflaquecimiento. Con frecuencia hay infecciones bacterianas sobreagregadas. En 80% de los casos se presenta atonía o hipotonía del esfínter anal. Finalmente el paciente entra en choque, puede presentar perforaciones y morir. (Botero & Restrepo, 2012; Gallego et al., 2003).

#### **1.2.4 PREVALENCIA Y TRANSMISIÓN DE LA AMEBIASIS**

Tiene distribución cosmopolita, con predominio en áreas socio económicas desprotegidas, como en países subdesarrollados. La amebiasis se reporta con mayor frecuencia en niños y adultos jóvenes, aunque no es rara en todas las edades. Otro grupo de riesgo para la infección amebiana, son los enfermos recluidos en hospitales psiquiátricos y las personas homosexuales o heterosexuales que practican el contacto ano-oral. (Fernández, 2004) Con respecto a la influencia del sexo sobre la prevalencia de la infección, los



varones, por razones no principalmente ocupacionales, pueden infectarse con una frecuencia algo mayor que las mujeres. (Beaver, 2003).

En Estados Unidos la prevalencia de *E. histolytica* es menor al 2 %, en Argentina, 13-22 %; Brasil, 10-47 %; Chile, 23-26%; Colombia, 4-54 %; Cuba, 1-31 %; Ecuador, 2-35 %, El salvador , 20 %; Haití, 16-50 %; Honduras, 20-46 %; Jamaica, 15-48 %; Nicaragua, 7-28 %; Paraguay, 17 %; Perú, 2 37 %; Puerto Rico, 12-14 %; República Dominicana, 14-34 %; Uruguay, 10-15 %; Venezuela, 7-43 %. (Beaver, 2003).

En una zona rural de Ecuador, en la provincia de Esmeraldas, se encontró una alta prevalencia de parasitismo intestinal (98.9 %); el 27 % fueron positivos para el complejo *E. histolytica/E. dispar*, de éstos el 18.9 % tenían patrones de zimógenos de *E. histolytica*. Todo esto demuestra la variabilidad de las prevalencias de estos protozoos en diferentes países y comunidades. (Botero & Restrepo, 2012).

### 1.2.5 TRANSMISIÓN

Los alimentos y bebidas contaminados con heces contienen quistes de *E. histolytica* son fuentes frecuentes de infección. La mayoría de casos tienen origen en portadores humanos que evacuan quistes en heces formadas o semiformadas y son asintomáticos. Solo los quistes son infectantes, ya que las secreciones gástricas destruyen los trofozoítos. (Reyes, 2012).

Los alimentos y bebidas pueden contaminarse por:

- a) Contaminación de abastecimiento de agua,
- b) Manipulación de individuos infectados,
- c) Deyecciones de moscas y otros insectos,
- d) Empleo de excrementos humanos como abono de huertas, y
- e) Descuido extremo de la higiene personal.

En medio húmedo, los quistes pueden permanecer viables durante al menos 8 días; en situaciones de frío y humedad, durante más de 12 días; en el agua, durante un período de 9 a 30 días; y en el agua a 4°C, durante



aproximadamente 3 meses según el grado de contaminación bacteriana. Los quistes son destruidos por desecación y su punto térmico letal es de 50°C. Son muy resistentes al cloro, pero pueden eliminarse del agua potable por hipercloración o adición de yodo. (Beaver, 2003).

### 1.2.6 DIAGNÓSTICO DE LA AMEBIASIS

Durante mucho tiempo la confirmación parasitológica del diagnóstico se realizó por estudios microscópicos para visualizar la morfología del protozoario. Sin embargo, el descubrimiento de *E. dispar*, la cual es idéntica morfológicamente a *E. histolytica*, resaltó las deficiencias de este método. En su lugar están surgiendo un número importante de pruebas basadas en la detección de antígenos y anticuerpos, y algunas de ellas diferencian entre las dos especies. Para nuestras condiciones la prueba de detección de antígenos en heces sería la de mayor utilidad, dado que diferencia *E. histolytica*, es fácil de realizar y es la de más bajo costo. La serología podría ser útil para determinar la prevalencia y las demás son costosas o son complicadas. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) presenta un excelente rendimiento, con una sensibilidad mayor para la PCR de tiempo real; además, puede diferenciar infección por *E. dispar* específicamente. (Ramos, Morán, González, García, & Ramiro, 2005; Flórez, García, Moncada, & Beltrán, 2003).

### 1.2.7 TRATAMIENTO DE AMEBIASIS

El tratamiento de la infección depende del diagnóstico clínico. Un paciente con un cuadro de colitis amebiana no requiere el mismo tratamiento que un portador asintomático, debido a los sitios y mecanismos de acción de los medicamentos empleados. Éstos se suelen dividir en lumbinales, como las 8-hidroxiquinolinas halogenadas (yodoquinol) y las amidas (teclozán, etofamida, quinfamida, etc.), o tisulares, como los nitroimidazoles (metronidazol, secnidazol, ornidazol). El metronidazol presenta una acción mixta, es decir, tanto luminal como tisular. (Gómez, Cortés, Cuervo, & López, 2007).

Se recomienda el tratamiento de los pacientes asintomáticos como una medida para controlar la transmisión, pero no existen estudios que validen esta recomendación. Algunos casos requieren manejo quirúrgico, como en la colitis amebiana fulminante (hemicolecotomías o, incluso, colectomías totales),



apendicitis amebiana (cuyo diagnóstico suele ser posquirúrgico), la perforación intestinal y el ameboma. Aunque se han descrito mecanismos de resistencia al metronidazol, la respuesta clínica suele ser adecuada. (Gómez et al., 2007; Bansal, Sehgal, Chawla, & Malla, 2006).

### 1.3 PRODUCTOS NATURALES CON ACTIVIDAD ANTIPARASITARIA

El uso de las plantas medicinales con fines curativos es una práctica aplicada desde tiempos inmemoriales. Las plantas medicinales fueron el principal recurso de que disponían los médicos. Esto hizo que se profundizaran en el conocimiento de las especies vegetales que poseen propiedades medicinales para ampliar su experiencia en el empleo de los productos que de ellas se extraen. (Roca & Céspedes, 2010).

Tradicionalmente las diferentes plantas propias de cada región geográfica son empleadas por la población local con diferentes fines medicinales, y entre los cuales se encuentran los efectos antiparasitarios. Este conocimiento, ha sido mantenido de generación en generación y a lo largo de los años. (Méndez, 2008).

Las plantas superiores son fuentes naturales para el descubrimiento de nuevos agentes antiparasitarios. La búsqueda de estos agentes debe considerar algunos desafíos, tales como: especificidad al parásito objetivo, eficacia y efectos colaterales. La búsqueda de antiparasitarios a partir de plantas medicinales provee la oportunidad de descubrir nuevas moléculas de gran actividad y selectividad, las cuales guiarán el desarrollo de fármacos antiparasitarios. (Kayser, Kiderlen, & Croft, 2003).

Los agentes antiparasitarios de origen natural incluyen a principios activos reconocidos mundialmente como la quinina, obtenida de especies de *Cinchona*, la artemisina, obtenida de *Artemisia annua*, y la emetina, de *Pschotria (Cephaelis) ipecacuana*, usada en el tratamiento de amebiasis (Tagboto & Townson, 2001).



### **1.3.1 EVALUACIÓN DE EXTRACTOS VEGETALES COMO AGENTES ANTIAMEBIANOS**

Un extracto vegetal es una mezcla compleja, con multitud de compuestos químicos, obtenible por procesos físicos, químicos y/o microbiológicos a partir de una fuente natural y utilizable en cualquier campo de la tecnología. (Pardo, 2011).

Los extractos de una planta se diferencian no solamente por medio del solvente primario empleado, sino también por los pasos de preparación empleados. La extracción a partir de una planta vegetal con un solvente primario proporciona, en primera instancia, un extracto bruto o bien, un extracto general no tratado. (Pardo, 2011; Regnault, Bernard, & Charles, 2004).

## **1.4 OBTENCIÓN DE EXTRACTOS VEGETALES POR EL MÉTODO SOXHLET**

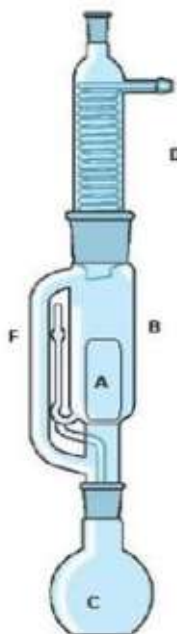
### **1.4.1 DESCRIPCIÓN DEL EQUIPO DE EXTRACCIÓN**

El equipo Soxhlet tiene como función recircular los vapores condensados con ayuda de un sifón a la fuente de disolvente que se encuentra en evaporación continua, arrastrando consigo los principios activos de la materia prima contenido en los cartuchos desechables. La capacidad aproximada en un equipo de laboratorio es de 500 ml de volumen primario con una recirculación de 100 ml cada cinco minutos aproximadamente en estado estable. La velocidad de reflujo depende directamente de la eficiencia y el tamaño del condensador. (Anaya & Pedroza, 2008).

La sustancia sólida se introduce en un cartucho poroso (generalmente hecho con papel de filtro, que permite al solvente entrar y salir reteniendo al sólido) que se coloca dentro del recipiente (B). Se adosa un balón (C) a dicho recipiente donde se coloca el volumen de solvente que se utilizará en la extracción. Por el extremo superior del recipiente (B), se coloca un condensador (D). El solvente se calienta, los vapores ascienden por el tubo (E),



condensan en el refrigerante (D) y caen dentro del recipiente (B) impregnando al sólido que se encuentra en el cartucho (A). El recipiente (B) se va llenando lentamente de líquido hasta que llega al tope del tubo (F) y se descarga dentro del balón (C) repite automáticamente hasta que la extracción se completa. El solvente de extracción se evapora, recuperando así a la sustancia deseada. (Anaya & Pedroza, 2008; Martínez, 2006).



**Figura 4.** Equipo Soxhlet (Martínez, 2006).

#### **1.4.2 SOLVENTES UTILIZADOS EN EXTRACCIÓN POR MÉTODO SOXHLET**

El etanol (EtOH), conocido también como alcohol etílico, es un alcohol que se presenta en condiciones normales de presión y temperatura como un líquido incoloro e inflamable con un punto de ebullición de 78 °C y punto de fusión de -114,1 °C. Es altamente inflamable, soluble en agua en cualquier proporción, reacciona violentamente con oxidantes fuertes y lentamente con hipoclorito cálcico, óxido de plata y amoníaco. (Patiño, Riveros, & Tovar, 2005).



El metanol (MeOH), es un líquido incoloro, volátil e inflamable con un ligero olor alcohólico en estado puro. Tiene un peso molecular de 32,04 g/mol, punto de ebullición de 67,4 °C y punto de fusión -97,8 °C. Es un líquido altamente venenoso y nocivo para la salud. Es miscible en agua, alcoholes, ésteres, cetonas y muchos otros solventes; además, forma muchas mezclas azeotrópicas binarias. Es poco soluble en grasas y aceites. (Patiño et al., 2005; Córdoba, 2007).

El diclorometano (DCM), es un líquido incoloro, volátil, ligeramente soluble en agua y con un olor característico, con un punto de ebullición de 40 °C y punto de fusión de -95,1 °C. En contacto con superficies calientes o con llamas, se descompone formando humos tóxicos y corrosivos. Reacciona violentamente con metales como el aluminio, magnesio, sodio, potasio y litio, bases y oxidantes fuertes, atacando a algunas formas de plástico, caucho y recubrimientos. (Guerrero & Beltrán, 2006).

## 1.5 PLANTAS SUJETO DE ESTUDIO

### 1.5.1 Paico

**Nombre científico:** *Chenopodium ambrosioides*

Pertenece a la familia Chenopodiaceae, es originario de las regiones tropicales de América, crece en climas templados. En Ecuador el paico brota espontáneamente en las cercanías de huertos, bordes de jardines, potreros, orilla de caminos, terraplenes, terrenos de cultivo, etc. Se reproduce por semillas; es una planta no muy exigente respecto a la calidad del suelo, pero debe ser regada regularmente; además requiere de buena luminosidad. (González, Huaquino, González, Van Baren, & Di Leo Lira, 2009).

### Usos medicinales

Esta planta se emplea con diversos fines, entre ellas tenemos que la infusión de paico estimula las funciones digestivas, útil en casos de dismenorrea. En



medicina popular se la emplea para tratar afecciones gastrointestinales: diarreas, empacho, dolor de estómago, indigestión, estreñimiento, cólicos intestinales. Es una planta usada tradicionalmente para la eliminación de los parásitos intestinales, las partes más utilizadas de esta planta son las hojas y ramas, uno de sus compuestos orgánicos naturales más importantes es el ascaridol, al cual se le atribuyen propiedades antiparasitarias, antimaláricas, antifúngicas, relajantes musculares, estimulantes respiratorios, antibacterianas entre otras. (Estrada, Castaño, Ramírez, Rodríguez, & González, 2012; Navas, 2009).

### 1.5.2 Ajenjo

**Nombre científico:** *Artemisia absinthium*

Pertenece a la familia Asteraceae, género Artemisia, es una planta aromática y arbustiva de raíces permanentes, de las que brotan tallos firmes, foliosos y lignificados en la base. Su área de distribución abarca desde Asia Central hasta Europa Occidental, bastante resistente al frío y a las condiciones de sequía, poco exigente en suelos y que prospera bien en climas templados. (Navas, 2009).

### Usos medicinales

La actividad terapéutica de esta planta reside principalmente en su aceite esencial, el que posee acción antihelmíntica, antibacteriana, vermífuga y favorecedora de las funciones digestivas. En medicina popular se emplea la infusión de las hojas y sumidades floridas frescas o desecadas del ajeno en malestares estomacales y hepáticos, para eliminar parásitos intestinales, regular el ciclo menstrual y como tratamiento del resfrío con tos. (González, Burillo, Urieta, & Sanz, 2013).

### 1.5.3 Albahaca

**Nombre científico:** *Ocimum basilicum*



Pertenece a la familia Lamiaceae, es una planta de origen asiático, que se cultiva actualmente en muchas regiones cálidas y templadas del mundo, especialmente del área mediterránea, es una planta aromática y medicinal, herbácea, de tallos erectos y ramificados, frondosa, que alcanza de 30 a 50 cm de altura. Sus hojas miden 2 a 5 cm y son suaves, oblongas y opuestas. La planta requiere suelos livianos, permeables, bien expuestos a la luz y sobre todo con abundante riego si el período es seco. (Navas, 2009).

### **Usos medicinales**

La actividad biológica de esta planta se atribuye especialmente a su aceite esencial que le confiere propiedades digestivas, carminativas, espasmolíticas, además de antisépticas (contra bacterias y parásitos), insecticidas y sedantes. En medicina popular se emplean las hojas frescas o secas (en infusión) para tratar malestares del aparato digestivo (dispepsia, estreñimiento, cólicos, dolor de estómago, vómitos); en forma externa para lavar heridas; macerada en alcohol se usa para calmar dolores reumáticos y articulares. También se puede utilizar el jugo fresco de las hojas de albahaca para uso interno y para aplicar directamente sobre la piel en casos de acné. (Bareño, 2006).

#### **1.5.4 Congona**

**Nombre científico:** *Peperomia inaequifolia*

Pertenece a la familia Piperaceae, es comúnmente cultivada y distribuida en el Perú, Ecuador y países vecinos, es una planta herbácea, posee ramificaciones, de tallo carnoso que puede alcanzar de 20 - 50 cm de altura, con hojas gruesas, carnosas y redondeadas las mismas que tienen una disposición característica, las cuales se distribuyen en posición verticilada, es decir, nacen varias desde un mismo punto. En esta planta, es posible ver desde 4 a 6 hojas por verticilo. Es sensible a las heladas y no soporta las altas temperaturas. (Pino, 2004; Herbociencia, 2016).

---



### **Usos medicinales**

Utilizada para la cura de males tales como irritaciones dérmicas, heridas, sedante, afecciones hepáticas, contra la otitis y conjuntivitis ocular.

Las hojas trituradas son cicatrizantes tópicos y se usan como dentífrico contra la gingivitis, la infusión de las hojas es tranquilizante y se usa como analgésico para la cefalea. Además, poseen efectos calmantes y cicatrizantes, por lo que se ha utilizado para tratar dolores e infecciones. (Pino, 2004). Se ha comprobado, que las hojas de congona, contienen dentro de sus aceites esenciales, cantidades importantes de miristicina, elimicina, alfa-bisabolol y safrol, los cuales tienen un efecto antifúngico, antibacterial y antiparasitario. (Herbociencia, 2016).



## CAPÍTULO 2

### METODOLOGÍA

#### 2.1 MODALIDAD DE LA INVESTIGACIÓN

Se desarrolló una investigación de corte experimental orientada a evaluar el potencial de extractos orgánicos de *Chenopodium ambrosioides* (paico), *Artemisia absinthium* (ajenjo), *Ocimum basilicum* (albahaca), *Peperomia inaequifolia* (congona); con el propósito de estandarizar un bioensayo para evaluar el potencial de sustancias de origen natural como antiamebianos. En el proyecto se realizan un conjunto de actividades metódicas y técnicas para recabar la información y datos necesarios sobre el tema señalado y el problema a resolver.

#### 2.2 TIPO DE INVESTIGACIÓN

La presente investigación fue exploratoria dado que se indagaron nuevos datos permitiendo evaluar la actividad antiamebiana de los extractos obtenidos de las plantas en estudio.

La investigación proporcionó datos importantes que deberán ser tomados en cuenta para generar acciones que permitan reducir la prevalencia de amebiasis.

#### 2.3 MUESTRA

En esta investigación se obtuvieron muestras de heces fecales humanas que tras el análisis macro y microscópico en el laboratorio de microscopía de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Cuenca durante el mes de febrero del 2018, presentaron por lo menos una cruz de positividad para quistes y/o trofozoítos de *E. histolytica*. Los mismos constituyen una muestra no probabilística.

#### 2.4 VARIABLES

<b>Variables Independientes</b>	Extractos vegetales, concentración de extractos vegetales, concentración de testigos farmacológicos
<b>Variable Dependiente</b>	Actividad antiamebiana



## 2.5 AISLAMIENTO Y CULTIVO DE *ENTAMOEBIA HISTOLYTICA*

Con el fin de obtener aislados puros y viables del parásito de prueba, se siguió la metodología que se describe a continuación:

- Se distribuyó en cada tubo 9 mL de medio de cultivo Diamond preparado previamente, según formulación presentada en Anexo 1.
- Se sembraron 2 gramos de heces fecales contenidas con amebas de muestras positivas, en tubos plásticos con tapa rosca, estériles y que contenían el medio de cultivo Diamond.
- Luego se agregó a cada tubo, 1 mL de suero sanguíneo estéril y se incubó a 37 °C en una estufa marca Memmert®. Estos cultivos se examinaron a las 24 horas a través de un microscopio marca Optimus® con un aumento de 40X para controlar el crecimiento y detectar la presencia de contaminación.

### 2.5.1 BIOENSAYO DE ACTIVIDAD ANTIAMEBIANA

Con el fin de evaluar la actividad antiamebiana de los extractos vegetales obtenidos, se siguió la metodología que se describe a continuación.

- Se preparó un gradiente de concentraciones de 100 a 25 mg/mL; a partir de una solución madre de 100 mg/mL, utilizando como solvente Metanol P.A. El volumen final de las soluciones de trabajo fue 100 µL.
- Se tomaron 950 µL de la suspensión amebiana cultivada, se añadió 50 µL de los diferentes extractos vegetales obtenidos.
- Estos tubos se incubaron a 37 °C, cada prueba se realizó por duplicado. Después de la incubación, las amebas se examinaron a las 24, 48 y 72 horas a través de un microscopio, utilizando eosina 0.01% como colorante de contraste.
- Posteriormente se contó el número de amebas muertas y vivas, las amebas muertas se tiñeron de rojo y las amebas vivas se pudieron contar en un portaobjetos, a través de un microscopio en lente objetivo de 40X a las 24, 48 y 72 horas de incubación.





- La observación de preparaciones teñidas según lo descrito previamente permitió evidenciar la presencia de quistes y/o trofozoítos. Se realizó un recuento de amebas por 100 campos y se asignó un resultado positivo al evidenciar presencia de por lo menos una célula por campo.
- Además, se trabajó con dos testigos farmacológicos (secnidazol y metronidazol) en dosis de 10 a 2 mg/mL, el cual se añadió en diferentes tubos que contenían el cultivo amebiano en el medio de Diamond; esto sirvió para comparación del efecto farmacológico frente a la actividad antiamebiana de los extractos vegetales en estudio. Se trabajó también con un control positivo conformado por 1000 µl de medio de cultivo amebiano.

### 2.5.2 INTERPRETACIÓN DEL BIOENSAYO

El bioensayo se interpretó de forma cualitativa, utilizando la siguiente escala:

- **Resultado positivo (+):** se reportó con una cruz de positividad cuando se observó presencia de uno a tres quistes y/o trofozoítos en la muestra analizada.
- **Resultado negativo (-):** indica que no se observó presencia de amebas en la muestra analizada.





### CAPÍTULO 3

#### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

##### 3.1 RENDIMIENTO DE EXTRACTOS VEGETALES

Los rendimientos de extracción se presentan en la Tabla 2, como porcentaje peso/peso; relacionando el peso de la biomasa vegetal con el rendimiento de extraíbles.

**Tabla 2.** Rendimiento de los Extractos Vegetales

Solvente de extracción	Especie Vegetal	Peso material vegetal (g)	Peso del extracto (g)	Rendimiento (% P/P) = $\frac{\text{Peso del extracto}}{\text{Peso material vegetal}} \times 100$
Metanol (MeOH)	<i>Ocimum basilicum</i> (albahaca)	10	1,44	14,4
	<i>Peperomia inaequifolia</i> (congona)	10	3,04	30,4
	<i>Chenopodium ambrosioides</i> (paico)	10	0,78	7,8
	<i>Artemisia absinthium</i> (ajenjo)	7	1,4	20
Diclorometano (DCM)	<i>Ocimum basilicum</i> (albahaca)	10	0,21	2,1
	<i>Peperomia inaequifolia</i> (congona)	10	0,98	9,8
	<i>Chenopodium ambrosioides</i> (paico)	10	0,19	1,9
	<i>Artemisia absinthium</i> (ajenjo)	7	0,36	5,14



### 3.2 EXTRACTOS VEGETALES CON ACTIVIDAD ANTIAMEBIANA

A continuación, se presentan los resultados obtenidos en el ensayo de actividad antiamebiana de los extractos vegetales. El ensayo se realizó por duplicado.

**Tabla 3.** Resultados de la actividad antiamebiana de los extractos vegetales

Especie Vegetal	Solvente de Extracción	24 horas			48 horas			72 horas		
		100 mg/m L	50 mg/m L	25 mg/m L	100 mg/m L	50 mg/m L	25 mg/m L	100 mg/m L	50 mg/m L	25 mg/m L
<i>Ocimum basilicum</i> (albahaca)	MeOH	+	+	+	-	-	+	-	-	-
	DCM	+	+	+	-	-	+	-	-	-
<i>Peperomia inaequifolia</i> (congona)	MeOH	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	DCM	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Chenopodium ambrosioides</i> (paico)	MeOH	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	DCM	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Artemisia absinthium</i> (ajeno)	MeOH	+	+	+	-	-	+	-	-	-
	DCM	+	+	+	-	-	+	-	-	-

(+): crecimiento de al menos una célula por campo, al examinar 100 campos

(-): ausencia de crecimiento de células en 100 campos





### 3.3 TESTIGOS FARMACOLÓGICOS CON ACTIVIDAD ANTIAMEBIANA

**Tabla 4.** Resultados de la actividad antiamebiana de los testigos farmacológicos

Testigo farmacológico	24 horas			48 horas			72 horas		
	10 mg/mL	5 mg/mL	2 mg/mL	10 mg/mL	5 mg/mL	2 mg/mL	10 mg/mL	5 mg/mL	2 mg/mL
Secnidazol	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Metronidazol	+	+	+	-	-	-	-	-	-

(+): crecimiento de al menos una célula por campo, al examinar 100 campos

(-): ausencia de crecimiento de células en 100 campos



### 3.4 DISCUSIÓN

En este estudio se investigó la actividad antiamebiana de los extractos de *Chenopodium ambrosioides* (paico), *Artemisia absinthium* (ajenjo), *Ocimum basilicum* (albahaca), *Peperomia inaequifolia* (congona); y se comparó la efectividad de estos agentes con los testigos farmacológicos secnidazol y metronidazol.

Los rendimientos de los extractos vegetales de las plantas en estudio varían entre 30,4 % a 7,8 % en los extractos obtenidos utilizando como solvente metanol; y de 9,8 % a 1,9 % en los extractos obtenidos utilizando como solvente diclorometano, siendo el extracto metanólico y diclorometánico de *Peperomia inaequifolia* (congona) el que demostró mejor rendimiento como se observa en la tabla 2.

Para determinar la hipótesis planteada, se probó la actividad antiparasitaria de los extractos vegetales a diversas concentraciones, frente a *Entamoeba histolytica*.

Según información referenciada por G. Estrada et al., en el artículo “Study of the effectiveness of paico (*Chenopodium ambrosioides*) as an anthelmintic, in specimens kept in captivity Home of Passage for Wildlife of the Amazonia University es posible deducir que la efectividad del paico se debe al hecho de poseer ascaridol, que es un antihelmíntico natural que altera el metabolismo e inhibe el fumarato reductasa de las mitocondrias, importante en el metabolismmo microbiano para la respiración anaeróbica, la disminución del transporte de glucosa o el desacoplamiento de la fosforilación oxidativa, destruyendo al parásito”. (Estrada et al., 2012) Por otro lado como lo mencionan L. De la Torre et al., en su documento “Enciclopedia de las plantas útiles en el Ecuador” la planta *Chenopodium ambrosioides* (paico) se utiliza para eliminar parásitos intestinales como las amebas. (De la torre, Navarrete, Muriel, Macía, & Balslev, 2008). En este trabajo los resultados mencionados en la tabla 3 demostraron que los extractos de paico y congona en todas sus concentraciones (100 mg/mL, 50 mg/mL, 25mg/mL) utilizando como solvente de extraccion metanol y diclorometano fueron los de mejor actividad,



observandose inhibición de crecimiento de microorganismos en 24, 48 y 72 horas de incubación.

Según el trabajo realizado por L. Álvarez & A. Quispe, del “Efecto antiparasitario de la infusión de ajeno (*Artemisia Absinthium*) en niños de edad escolar” el ajeno presenta actividad antiparasitaria debido a uno de sus componentes activos como la tuyona. (Álvarez & Quispe, 2010) A si mismo según M. Guerrá et al., en su estudio “Validación del uso tradicional de plantas medicinales cultivadas en Cuba, en el Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM)”. Indicaron de la actividad antimicrobiana y anti giardiósica “*in vitro*” de extractos de *Artemisia absinthium* (ajeno), obteniendo resultados positivos, esto debido a la presencia de monoterpenos y sesquiterpenos en las distintas especies de *Artemisia*. (Guerra, Torres, & Martínez, 2001) Sin embargo en este trabajo de investigación los resultados indicaron que los extractos de ajeno no inhibieron el crecimiento amebiano a las 24 horas de incubación, su efecto antiamebiano se demostró a las 48 horas a una mayor concentración. La inhibición de los microorganismos parecería ser dependiente de la concentración de extracto y del tiempo de incubación tanto en extractos obtenidos con los solventes metanol y diclorometano.

De igual manera los extractos metanólicos y diclorometánicos de albahaca demostraron que a las 24 horas el reporte fue de una cruz de positividad demostrando poca efectividad antiamebiana y que a las 48 horas de incubación a una mayor concentración, demostró efecto antiamebiano, siendo su actividad tardía con respecto a los extractos metanólicos y diclorometánicos de paico y congona. Según la investigación: “Efecto *in vitro* del extracto hidroalcohólico de albahaca (*Ocimum basilicum*) sobre el crecimiento de *Actinomyces viscosus*” realizada por H. Cosio & H. Rodríguez, mencionan que la mayor dosis de los extractos puestos a prueba tiene mayor efecto antimicrobiano. Dado que la albahaca, por su composición del eugenol, linalol y estragol, tiene antecedentes de actividad antimicrobiana y antiparasitaria, y es usado dentro de la medicina natural tradicional, es probable que las concentraciones altas de la solución hidroalcohólica de albahaca tengan mejores efectos. (Cosio & Rodríguez, 2017)



Con respecto a la *Peperomia inaequalifolia* (congoña), según G. Santacruz, en su trabajo titulado: “Evaluación del efecto acaricida del aceite esencial de congoña, (*Peperomia inaequalifolia* Ruiz & Pav.) en plantas de frutilla (*Fragaria vesca* L.)” Los metabolitos secundarios encontrados en extractos, obtenidos de diferentes partes de esta planta, muestran actividad antifúngica, antiparasitaria, estimulante, bactericida. Sus propiedades inhiben el crecimiento de un amplio grupo de microorganismos, siendo particularmente útiles como antivirales, antimicóticos, antibacterianos y antiparasitarios. Se han encontrado compuestos biológicamente activos como fenilpropanoides, monoterpénoides y sesquiterpenoides, se pudiera atribuir la mayor actividad a sus componentes terpenoides, fundamentalmente los oxigenados, y la mayor contribución a este efecto corresponde específicamente al safrol, mencionado éste como componente mayoritario. (Santacruz, 2015) Los ensayos realizados con los extractos metanólicos y diclorometánicos de congoña en esta investigación, presentaron actividad antiamebiana, pues no existió crecimiento de microorganismos desde las 24 hasta las 72 horas de incubación.

Los resultados obtenidos con los testigos farmacológicos demostraron que el secnidazol tubo actividad antiamebiana a las 24 horas del ensayo en todas las diluciones (10 mg/mL, 5 mg/mL, 2 mg/mL), observándose mayor efecto comparado con el metronidazol que tubo actividad a las 48 y 72 horas de incubación. En una investigación realizada por D. Botero et al., titulada: “Tratamiento de amibiasis intestinal con secnidazol II. Estudio doble ciego en portadores asintomáticos” mencionan que el más reciente de los nitroimidazoles, secnidazol, tiene una vida media en el organismo mayor que el metronidazol y tinidazol y que las concentraciones sanguíneas son más altas. Se demostró que presentaba muy buena actividad tisular contra los trofozoítos y que también era eficiente a nivel de la luz intestinal en portadores de quistes. (Botero, Gómez, Trujillo, Caro, & Palacio, 2002).

Por otra parte algunas moléculas obtenidas de plantas como la artemisa, la quinina y la emetina, entre otras, han sido utilizadas en el tratamiento de la amebiasis. (Tagboto & Townson, 2001). Lo que motiva los estudios, cada vez



más numerosos, de la actividad antiparasitaria de componentes de plantas aromáticas y medicinales en modelos experimentales.

Resulta necesario realizar nuevas evaluaciones que permitan determinar la concentración de inhibición frente a cultivos estandarizados de amebas. Estos resultados generan información de base para nuevas investigaciones, y demuestran la actividad antiparasitaria promisorio de los extractos en estudio frente al parásito evaluado. Es necesario formular nuevos antiamebianos basados en estas plantas, pues podrían constituir una alternativa eficaz y segura para el control de enfermedades parasitarias, tomando en consideración las amplias afectaciones provocadas por el patógeno estudiado.



## CONCLUSIONES

El desarrollo del presente trabajo de investigación permite formular las siguientes conclusiones:

1. Se valoró la acción antiparasitaria de extractos obtenidos de *Chenopodium ambrosioides* (paico), *Artemisia absinthium* (ajenjo), *Ocimum basilicum* (albahaca) y *Peperomia inaequalifolia* (congona) frente a *Entamoeba histolytica*, en donde:
  - Se observó que los extractos vegetales de paico y congona inhiben el crecimiento del organismo durante las 24, 48 y 72 horas de experimentación en todas sus concentraciones tanto en los extractos obtenidos utilizando como solvente de extracción metanol y diclorometano.
  - En los extractos de ajenjo y albahaca se reportó una cruz de positividad a las 24 horas, mostrando eficacia en 48 y 72 horas de incubación, por lo que en estos extractos se observó efectividad a mayor concentración de extracto y a mayor tiempo de incubación tanto en los extractos obtenidos utilizando como solvente de extracción metanol y diclorometano.
2. Se evaluó la actividad antiamebiana de los extractos obtenidos de las plantas en estudio en un ensayo “*in vitro*”, de los metabolitos de origen natural mediante la combinación de cada extracto en un cultivo amebiano sembrado en caldo de Diamond que es eficaz para protozoarios dándonos como resultado la inhibición de microorganismos luego de la incubación.
3. Se estandarizó la técnica “*in vitro*” a las condiciones experimentales de los laboratorios de la Facultad de Ciencias Químicas, y se demostró la actividad antiamebiana de las plantas en estudio.
4. Esta investigación demostró que los extractos más promisorios fueron los extractos metanólicos y diclorometánicos de paico y congona en todas sus concentraciones, comparado con los extractos metanólicos y diclorometánicos de ajenjo y albahaca los cuales tuvieron actividad a mayor concentración de extracto y a mayor tiempo de incubación.





5. Esta investigación demuestra que los compuestos bioactivos presentes en las plantas en estudio tienen actividad antiparasitaria, con lo cual se puede valorar el potencial de las plantas de nuestra región ante un parásito que causa un problema de salud pública como *Entamoeba histolytica*.



## RECOMENDACIONES

Por lo anterior expuesto en el presente trabajo y por los resultados obtenidos, se recomienda lo siguiente:

- Aplicar la técnica desarrollada en este trabajo para evaluar la actividad antiparasitaria de otras especies vegetales con potenciales bioactivos, con usos tradicionales en nuestra región.
- Evaluar la composición y variación de compuestos bioactivos de los extractos obtenidos, para determinar el período en que se puede obtener plantas con mejor actividad y rendimiento, tomando en cuenta factores ambientales, niveles de luz y condiciones de secado.
- Emplear cepas estandarizadas de *E. histolytica*, con el fin de asegurar un cultivo donde se desarrolle microorganismos puros y viables.



## BIBLIOGRAFÍA

- Aguilera, P., Barry, T., & Tovar, J. (2007). Entamoeba histolytica mitosomes: Organelles. *Biblioteca Nacional de Medicina de EEUU. Intitutos Nacionales de Salud*, 118 (1): 10-6.
- Álvarez, L., & Quispe, A. (2010). Efecto Antiparasitario de la Infusión de ajenojo (artemisia absinthium) en niños de edad escolar. *Ucebol*, pag. 23-27.
- Anaya, A., & Pedroza, H. (2008). Escalamiento, el Arte de la Ingeniería Química: Plantas Piloto. *Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe*, Vol. 23 (1): 31-39.
- Antony, J., Fyfe, L., & Smith, H. (2005). Plant active components: a resource for antiparasitic agents. *Trends in Parasitology*, 21(10), 462 - 468.
- Atias, A. (2001). *Parasitología Médica*. Santiago de Chile: 4ta Edición. Publicaiones Médicas Mediterráneas.
- Bansal, D., Sehgal, R., Chawla, Y., & Malla, N. (2006). Multidrug resistance in amoebiasis patients. *Indian J Med Res*, 124: 189-94.
- Bareño, P. (2006). Albahaca (Ocimum basilicum). En *Ultimas tendencias en hierbas aromáticas culinarias para exportación en fresco* (págs. 86-87). Bogotá Produmedios.
- Beaver, C. (2003). *Parasitología Clínica de Craig Faust*. México: 3ra Edición.
- Botero, D., & Restrepo, M. (2012). *Paraitosis Humanas - incluye animales venenosos y ponsoñosos*. Medellín: 5 ed.
- Botero, D., Gómez, H., Trujillo, J., Caro, G., & Palacio, B. (2002). Tratamiento de amibiasis intestinal con secnidazol II. Estudio doble ciego en portadores asintomáticos. *Acta Med Colomb*, Vol 15 (4): 204-207.
- Cardona, A., Combariza, J., & Reveiz, L. (2004). Características clínicas y microbiologicas de la colitis neutropénica en adultos con neoplasias hematológicas del Instituto Nacional de Cacerología de Bogotá, D.C. En *Enfermedades Infecciosas y Microbiologña Clinica* (págs. Vol 22:462-6). Bogotá.
-



- Center for Disease Control and Prevention. (2014). *Services, U.S. Department of Health & Human*. Obtenido de Laboratoty Identification of parasites of Public health Concem: <http://www.cdc.gov/dpdx/>
- Córdoba, D. (2007). *Toxicología*. México: Editorial Manual Moderno.
- Cosio, H., & Rodríguez, H. (2017). Efecto in vitro del extracto hidroalcohólico de albahaca (*Ocimum basilicum*) sobre el crecimiento de *Actinomyces viscosus*. *Ciencia y Desarrollo. Universidad Alas Peruanas*, 20 (1): 65-73.
- De la torre, L., Navarrete, H., Muriel, P., Macía, M., & Balslev, H. (2008). *Enciclopedia de las Plantas Utiles del Ecuador*. Quito.
- Del Valle, J., & Aguilera, J. (2009). High presure CO2 extraction. Fudamentals and applications in the food industry. *Food Science and Technology International*, Vol 5 (1): 1-24.
- Diamond, L. (1961). Axenic Cultivation of *Entamoeba histolytica*. *Science*, 134(3475), 336.
- Estrada, G., Castaño, D., Ramírez, K., Rodríguez, J., & González, L. (2012). Study of the effectiveness of paico (*Chenopodium ambrosioides*) as an anthelmintic, in specimens kept in captivity Home of Passage for Wildlife of the Amazonia University. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, Vol 7 (2): 31-36.
- Fernández, T. (2004). Aspectos científicos, sociales y preventivos. En *Medicina Tropical, Patologías Tropicales*. Guayaquil.
- Flórez, A., García, D., Moncada, L., & Beltrán, M. (2003). Prevalencia de microsporidios y otros parásitos intestinales en pacientes con infección por VIH. *Revista del Instituto Nacional de Salud*, Vol, 23 (3).
- Gallego, M., Gómez, J., Torres, E., & Lora, F. (2003). Prevalencia de *Entamoeba histolytica* en asentamientos temporales post-terremoto de la ciudad de Armenia. *Revista de la Asociación Colombiana de Infectología*, Vol. 7 (4).



- Gaspar, F. (2004). Extraction of Essential Oils and Cuticular Waxes with Compressed CO<sub>2</sub>. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 41 (10): 2497–2503.
- Gómez, J., Cortés, J., Cuervo, S., & López, M. (2007). Amebiasis Intestinal. En A. C. Infectología. Bogotá.
- González, A., Burillo, J., Urieta, J., & Sanz, J. (2013). *Procedimiento de extracción de Derivados Bioinsecticidas de la planta Artemisia Absinthium*.
- González, S., Huaquino, L., González, A., Van Baren, C., & Di Leo Lira, P. (2009). *Uso popular de paico y la composición química de su aceite esencial en la zona de esquel*.
- Guerra, M., Torres, D., & Martínez, L. (2001). Validación del uso tradicional de plantas medicinales cultivadas en Cuba. *Rev. Cubana Plant Med.*, (2): 48-51.
- Guerrero, A., & Beltrán, N. (2006). Intoxicación masiva por ingestión de alcohol adulterado con metanol. En *Estudio Multicéntrico* (págs. 477-492). Editorial Manual Moderno.
- Haque, R., Christopher, H., Hughes, M., Houpt, E., & Petri, W. (2003). Amebiasis: Current concepts. *The New England Journal of medicine*.
- Herbociencia. (2016). *La Congona y tus oídos*. Obtenido de Herbociencia : <https://herbociencia.wordpress.com/2016/01/31/la-congona-y-tus-oidos/>
- Kayser, O., Kiderlen, A., & Croft, S. (2003). Natural products as antiparasitic drugs . *PubMed*, 90: S55-S62.
- Lacoste, E., Rosado, F., Nuñez, F., & Rodríguez, M. (2012). Aspectos Epidemiológicos de las Parasitosis Intestinales en Niños de Vegón de Nutrias, Venezuela. *Revista Cubana de Higiene y epidemiología*, vol.50 no.3.
- Martínez, M. (2006). *Métodos de Análisis de Drogas y Extractos*. La Habana.



- Méndez, R. (2008). *Cultivos Orgánicos: Su control biológico en plantas medicinales y aromáticas*. Ecoe Ediciones 2da Edición.
- Mora, L., García, A., & De Donato, M. (2005). *Prevalencia del complejo Entamoeba Histolytica/Entamoeba dispar en pacientes con síntomas gastrointestinales de diarrea procedentes de Cumaná*. Estado Sucre.
- Navas. (2009). *Medicamentos Herbarios Tradicionales*. Santiago.
- Olaya, J., & Méndez, J. (2003). *Guía de Plantas y Productos Medicinales*. Convenio Andrés Bello.
- Pardo, J. (2011). *Patentabilidad de los extractos vegetales*. Obtenido de [http://www.pcb.ub.edu/centrepatents/pdf/cursos/dillunsCP/pardo\\_patentesextractosplantas.pdf](http://www.pcb.ub.edu/centrepatents/pdf/cursos/dillunsCP/pardo_patentesextractosplantas.pdf)
- Patiño, N., Riveros, A., & Tovar, A. (2005). *Vigilancia Centinela de Alcohol Etílico y Metílico*. Bogotá.
- Pérez, J., Andrade, M., López, J., Carranza, C., & Muro, A. (2013). *Helminths and respiratory apparatus*. Obtenido de Archivos de bronconeumología vol 42: <http://www.archbronconeumol.org/pt/helminthsapparatorespiratorio/articulo/13084399/>
- Pino, G. (2004). *Las especies del género Peperomia de la provincia de Cajamarca*. San Marcos-Perú.
- Ramírez, M., & Moran, P. (2013). *Amibiasis: su diagnóstico y tratamiento*. Obtenido de [http://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/64\\_2/PDF/Amibiasis\\_Diagnostico.pdf](http://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/64_2/PDF/Amibiasis_Diagnostico.pdf)
- Ramos, F., Morán, P., González, E., García, G., & Ramiro, M. (2005). High prevalence rate of Entamoeba histolytica asymptomatic infection in a rural Mexican community. *Am J Trop Med Hyg*.
- Regnault, C., Bernard, P., & Charles, V. (2004). *Biopesticidas de Origen Vegetal*. Madrid: Mundiprensa.



- Reyes, I. (2012). Parasitosis intestinal y educación sanitaria en alumnos de la Unidad Educativa Guamacho. *Revista Cubana de Investigaciones Biomedicas*, 1-2.
- Roca, R., & Céspedes, P. (2010). *Actividad Antiparasitaria del ajo y el albendazol*.
- Santacruz, G. (2015). *Evaluación del efecto acaricida del aceite esencial de congona, (Peperomia inaequalifolia Ruiz & Pav) en plantas de frutilla (Fragaria vesca L.)*. Quito.
- Sharma, P., & Sharma, J. (2001). A Review of Plant Species Assessed in vitro for Antiamoebic Activity or both Antiamoebic and Antiplasmodial Properties. *Medicinal Ecology*, Res. 15, 1-17.
- Tagboto, S., & Townson, S. (2001). Antiparasitic properties of medicinal plants and other naturally occurring products . *PubMed*, 50: 199-295.
- Torres, L. (2010). *Utilización del chocho (Lupinus mutabilis) como antiparasitario intestinal y hepático de ovinos mestizos*. Riobamba.
- Velazco, R., Villada, H., & Carrera, J. (2011). *Informacion Tecnológica*.  
Obtenido de [http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S071807642007000100009&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S071807642007000100009&script=sci_arttext).
- Vinueza, P. (2014). *Influencia de la parasitosis en el estado nutricional de niños en etapa escolar de 5-12 años*. Obtenido de Trabajo de grado de licenciatura. Pontificia Universidad catolica del Ecuador: <http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/7705/Tesis%20Paulina%20Vinueza.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

**ANEXOS****ANEXO 1. PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO (CALDO DE DIAMOND)**

Los componentes del medio Diamond fueron pesados en balanza analítica OHAUS (capacidad 120 g, precisión 0.0001 g). Previa disolución en agua destilada c.s.p y ajuste de pH a 7 con NaOH 1 N medido con tira indicadora de pH marca Merck®, el medio fue autoclavado a 121 °C por 15 min en un autoclave marca Trident®.

A continuación, se presenta la formulación para la preparación de 1000 mL de medio:

**Tabla 5.** Constituyentes del medio de cultivo Caldo de Diamond.

<b>Componente</b>	<b>Especificaciones Técnicas</b>	<b>Cantidad (gramos)</b>
Caldo de Soya Trypticase	Merck ®	2
Extracto de Levadura	Difco®	1
Sacarosa	Calidad comercial	0.5
Ácido ascórbico	Merck®	0.02
Agar	Difco®	0.05

**Fuente:** José Quillay

Una vez que se enfrió el medio se trasvasaron 9 mL a tubos falcon de 15 mL de capacidad y se almacenó a temperatura de refrigeración (2°C – 8°C) en una refrigeradora Indurama® hasta su uso. (Diamond, 1961).







## ANEXO 2. CÁLCULO DE CONCENTRACIONES

### EN EXTRACTOS VEGETALES

**Soluciones Madre (SM):** Las soluciones madre de los extractos vegetales a ensayar se ajustaron a una concentración de 100 mg/mL, pesando 100 mg y disolviendo en 1 mL de metanol.

- **Pesos registrados de los extractos metanólicos disueltos en 1 mL de metanol**

Albahaca = 100,8 mg

Paico = 100,6 mg

Ajenjo = 100,9 mg

Congona = 99,6 mg

- **Pesos registrados de los extractos diclorometánicos disueltos en 1 mL de metanol**

Albahaca = 98,21 mg

Paico = 98,65 mg

Ajenjo = 100,6 mg

Congona = 100,8 mg

**Soluciones de Trabajo:** se realizaron diluciones de la SM, las concentraciones se ajustaron a

- **Solución de 50 mg/mL:** Se tomaron 50  $\mu$ L de SM y se diluyó en 50  $\mu$ L de metanol
- **Solución de 25 mg/mL:** Se tomaron 25  $\mu$ L de SM y se diluyó en 75  $\mu$ L de metanol

### EN TESTIGOS FARMACOLÓGICOS

**Soluciones Madre (SM):** Las soluciones madre a ensayar se ajustaron a una concentración de 100 mg/mL, pesando 100 mg de principio activo y disolviendo en 1 mL de etanol.





- **Secnidazol**

Peso pastilla = 1234,1 mg

Principio activo = 1000 mg

1000 mg          1234,1 mg

100 mg          x=123,4 mg

**Preparación de solución:** Se pesaron 123,4 mg y se disolvió en 1 mL de etanol

- **Metronidazol**

Peso pastilla = 1412 mg

Principio activo = 1000 mg

1000 mg          1412 mg

100 mg          x=141,2 mg

**Preparación de solución:** Se pesaron 141,2 mg y se disolvió en 1 mL de etanol

**Soluciones de Trabajo:** se realizaron diluciones de la SM, las concentraciones se ajustaron a partir de 100 mg/mL

**Concentración Soluciones de Trabajo:**

10 mg/mL  
5 mg/mL  
2 mg/mL

**Fórmula para conocer el volumen de SM que se debe utilizar para cada dilución de las soluciones de trabajo**

**Solución 1:**  $V_1C_1 = V_2C_2$





$$V1 \times 100 \text{ mg/mL} = 1 \text{ mL} \times 10 \text{ mg/mL}$$

$$V1 = 100 \text{ }\mu\text{l}$$

**Solución 2:**  $V1C1 = V2C2$

$$V1 \times 100 \text{ mg/mL} = 1 \text{ mL} \times 5 \text{ mg/mL}$$

$$V1 = 50 \text{ }\mu\text{l}$$

**Solución 3:**  $V1C1 = V2C2$

$$V1 \times 100 \text{ mg/mL} = 1 \text{ mL} \times 2 \text{ mg/mL}$$

$$V1 = 20 \text{ }\mu\text{l}$$

### **Preparación de Disoluciones**

**Solución de 10 mg/mL:** Se tomaron 100  $\mu\text{l}$  de SM y se diluyó en 900  $\mu\text{l}$  de etanol

**Solución de 5 mg/mL:** Se tomaron 50  $\mu\text{l}$  de SM y se diluyó en 950  $\mu\text{l}$  de etanol

**Solución de 2 mg/mL:** Se tomaron 20  $\mu\text{l}$  de SM y se diluyó en 980  $\mu\text{l}$  de etanol





### ANEXO 3. LECTURA DE RESULTADOS

#### Primera repetición

**Tabla 6.** Lectura de resultados de actividad antiparasitaria de extractos vegetales

Reporte a las 24 horas							
Extracto Metanólico		Concentración					
		100 mg/mL		50 mg/mL		25 mg/mL	
	Especie Vegetal	Muestra A	Muestra B	Muestra A	Muestra B	Muestra A	Muestra B
	<i>Ocimum basilicum</i> (albahaca)	+	+	+	+	+	+
	<i>Peperomia inaequifolia</i> (congona)	-	-	-	-	-	-
	<i>Chenopodium ambrosioides</i> (paico)	-	-	-	-	-	-
	<i>Artemisia absinthium</i> (ajenjo)	+	+	+	+	+	+
Extracto Diclorometánico	<i>Ocimum basilicum</i> (albahaca)	+	+	+	+	+	+
	<i>Peperomia inaequifolia</i> (congona)	-	-	-	-	-	-
	<i>Chenopodium ambrosioides</i> (paico)	-	-	-	-	-	-
	<i>Artemisia absinthium</i> (ajenjo)	+	+	+	+	+	+
Testigo Farmacológico	Concentración						
		10 mg/mL		5 mg/mL		2 mg/mL	
	Secnidazol	Muestra A	Muestra B	Muestra A	Muestra B	Muestra A	Muestra B



		-	-	-	-	-	-
	Metronidazol	+	+	+	+	+	+
<b>Reporte a las 48 horas</b>							
<b>Extracto Metanólico</b>	Concentración						
		100 mg/mL		50 mg/mL		25 mg/mL	
	Especie Vegetal	Muestra A	Muestra B	Muestra A	Muestra B	Muestra A	Muestra B
	<i>Ocimum basilicum</i> (albahaca)	-	-	-	-	+	+
	<i>Peperomia inaequifolia</i> (congona)	-	-	-	-	-	-
	<i>Chenopodium ambrosioides</i> (paico)	-	-	-	-	-	-
	<i>Artemisia absinthium</i> (ajenjo)	-	-	-	-	+	+
<b>Extracto Diclorometánico</b>	<i>Ocimum basilicum</i> (albahaca)	-	-	-	-	+	+
	<i>Peperomia inaequifolia</i> (congona)	-	-	-	-	-	-
	<i>Chenopodium ambrosioides</i> (paico)	-	-	-	-	-	-
	<i>Artemisia absinthium</i> (ajenjo)	-	-	-	-	+	+
<b>Testigo Farmacológico</b>	Concentración						
		10 mg/mL		5 mg/mL		2 mg/mL	
	Secnidazol	Muestra A	Muestra B	Muestra A	Muestra B	Muestra A	Muestra B
		-	-	-	-	-	-



	Metronidazol	-	-	-	-	-	-
<b>Reporte a las 72 horas</b>							
<b>Extracto Metanólico</b>	Concentración						
		100 mg/mL		50 mg/mL		25 mg/mL	
	Especie Vegetal	Muestra A	Muestra B	Muestra A	Muestra B	Muestra A	Muestra B
	<i>Ocimum basilicum</i> (albahaca)	-	-	-	-	-	-
	<i>Peperomia inaequifolia</i> (congona)	-	-	-	-	-	-
	<i>Chenopodium ambrosioides</i> (paico)	-	-	-	-	-	-
	<i>Artemisia absinthium</i> (ajenjo)	-	-	-	-	-	-
<b>Extracto Diclorometánico</b>	<i>Ocimum basilicum</i> (albahaca)	-	-	-	-	-	-
	<i>Peperomia inaequifolia</i> (congona)	-	-	-	-	-	-
	<i>Chenopodium ambrosioides</i> (paico)	-	-	-	-	-	-
	<i>Artemisia absinthium</i> (ajenjo)	-	-	-	-	-	-
<b>Testigo Farmacológico</b>	Concentración						
		10 mg/mL		5 m/mL		2 mg/mL	
	Secnidazol	Muestra A	Muestra B	Muestra A	Muestra B	Muestra A	Muestra B
		-	-	-	-	-	-
	Metronidazol	-	-	-	-	-	-

(+): crecimiento de al menos una célula por campo, al examinar 100 campos

(-): ausencia de crecimiento de células en 100 campos



## Segunda Repetición

**Tabla 7.** Lectura de resultados de actividad antiparasitaria de extractos vegetales

Reporte a las 24 horas							
Extracto Metanólico	Concentración						
		100 mg/mL		50 mg/mL		25 mg/mL	
	Especie Vegetal	Muestra A	Muestra B	Muestra A	Muestra B	Muestra A	Muestra B
	<i>Ocimum basilicum</i> (albahaca)	+	+	+	+	+	+
	<i>Peperomia inaequifolia</i> (congona)	-	-	-	-	-	-
	<i>Chenopodium ambrosioides</i> (paico)	-	-	-	-	-	-
	<i>Artemisia absinthium</i> (ajenjo)	+	+	+	+	+	+
Extracto Diclorometánico	<i>Ocimum basilicum</i> (albahaca)	+	+	+	+	+	+
	<i>Peperomia inaequifolia</i> (congona)	-	-	-	-	-	-
	<i>Chenopodium ambrosioides</i> (paico)	-	-	-	-	-	-
	<i>Artemisia absinthium</i> (ajenjo)	+	+	+	+	+	+
Testigo Farmacológico	Concentración						
	Secnidazol	10 mg/mL		5 mg/mL		2 mg/mL	
		Muestra A	Muestra B	Muestra A	Muestra B	Muestra A	Muestra B
		-	-	-	-	-	-



	Metronidazol	+	+	+	+	+	+
<b>Reporte a las 48 horas</b>							
<b>Extracto Metanólico</b>	Concentración						
		100 mg/mL		50 mg/mL		25 mg/mL	
	Especie Vegetal	Muestra A	Muestra B	Muestra A	Muestra B	Muestra A	Muestra B
	<i>Ocimum basilicum</i> (albahaca)	-	-	-	-	+	+
	<i>Peperomia inaequifolia</i> (congona)	-	-	-	-	-	-
	<i>Chenopodium ambrosioides</i> (paico)	-	-	-	-	-	-
	<i>Artemisia absinthium</i> (ajenjo)	-	-	-	-	+	+
<b>Extracto Diclorometánico</b>	<i>Ocimum basilicum</i> (albahaca)	-	-	-	-	+	+
	<i>Peperomia inaequifolia</i> (congona)	-	-	-	-	-	-
	<i>Chenopodium ambrosioides</i> (paico)	-	-	-	-	-	-
	<i>Artemisia absinthium</i> (ajenjo)	-	-	-	-	+	+
<b>Testigo Farmacológico</b>	Concentración						
		10 mg/mL		5 mg/mL		2 mg/mL	
	Secnidazol	Muestra A	Muestra B	Muestra A	Muestra B	Muestra A	Muestra B
		-	-	-	-	-	-
	Metronidazol	-	-	-	-	-	-
<b>Reporte a las 72 horas</b>							
	Concentración						





Extracto Metanólico		100 mg/mL		50 mg/mL		25 mg/mL	
	Especie Vegetal	Muestra A	Muestra B	Muestra A	Muestra B	Muestra A	Muestra B
	<i>Ocimum basilicum</i> (albahaca)	-	-	-	-	-	-
	<i>Peperomia inaequiafolia</i> (congona)	-	-	-	-	-	-
	<i>Chenopodium ambrosioides</i> (paico)	-	-	-	-	-	-
	<i>Artemisia absinthium</i> (ajenjo)	-	-	-	-	-	-
Extracto Diclorometánico	<i>Ocimum basilicum</i> (albahaca)	-	-	-	-	-	-
	<i>Peperomia inaequiafolia</i> (congona)	-	-	-	-	-	-
	<i>Chenopodium ambrosioides</i> (paico)	-	-	-	-	-	-
	<i>Artemisia absinthium</i> (ajenjo)	-	-	-	-	-	-
Testigo Farmacológico	Concentración						
		10 mg/mL		5 m/mL		2 mg/mL	
	Secnidazol	Muestra A	Muestra B	Muestra A	Muestra B	Muestra A	Muestra B
		-	-	-	-	-	-
	Metronidazol	-	-	-	-	-	-

(+): crecimiento de al menos una célula por campo, al examinar 100 campos

(-): ausencia de crecimiento de células en 100 campos

#### ANEXO 4. GALERÍA FOTOGRÁFICA



**Fotografía 1.** Hojas de Albahaca

**Laboratorio de Biotecnología de la Universidad de Cuenca.**

**Fecha: 21/12/2017**

**Quillay, J. (2017)**



**Fotografía 2.** Hojas de Congona

**Laboratorio de Biotecnología de la Universidad de Cuenca.**

**Fecha: 21/12/2017**

**Quillay, J. (2017)**



**Fotografía 3. Hojas de Paico**

**Laboratorio de Biotecnología de la Universidad de Cuenca.**

**Fecha: 21/12/2017**

**Quillay, J. (2017)**



**Fotografía 4. Hojas de Ajenjo**

Laboratorio de Biotecnología de la Universidad de Cuenca.

Fecha: 21/12/2017

Quillay, J. (2017)



**Fotografía 5.** Equipo de Extracción Soxhlet

Laboratorio de Biotecnología de la Universidad de Cuenca.

Fecha: 16/01/2018

Quillay, J. (2018)



**Fotografía 6.** Extractos vegetales obtenidos por método Soxhlet

**Laboratorio de Biotecnología de la Universidad de Cuenca**

**Fecha: 02/02/2018**

**Quillay, J. (2018)**



**Fotografía 7. Medio de Cultivo Diamond**

**Laboratorio de Parasitología de la Universidad de Cuenca**

**Fecha: 05/02/2018**

**Quillay, J. (2018)**



**Fotografía 8. Suero sanguíneo**

**Laboratorio de Parasitología de la Universidad de Cuenca**

**Fecha: 05/02/2018**

**Quillay, J. (2018)**



**Fotografía 9.** Cultivo de amebas luego de incubar 24 horas

**Laboratorio de Parasitología de la Universidad de Cuenca**

**Fecha: 06/02/2018**

**Quillay, J. (2018)**

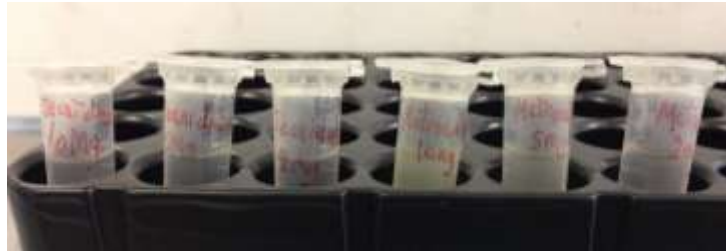


**Fotografía 10.** Extractos en diferentes concentraciones

**Laboratorio de Parasitología de la Universidad de Cuenca**

**Fecha: 06/02/2018**

**Quillay, J. (2018)**

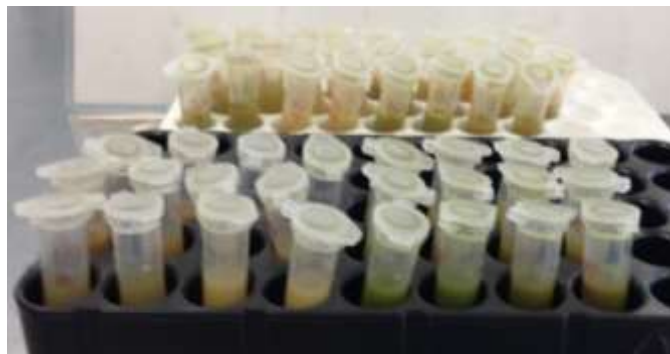


**Fotografía 11.** Testigos farmacológicos en diferentes concentraciones

**Laboratorio de Parasitología de la Universidad de Cuenca**

**Fecha: 06/02/2018**

**Quillay, J. (2018)**



**Fotografía 12.** Ensayos antiamebianos

## Laboratorio de Parasitología de la Universidad de Cuenca

Fecha: 06/02/2018

Quillay, J. (2018)



Fotografía 13. Eosina al 0,01%

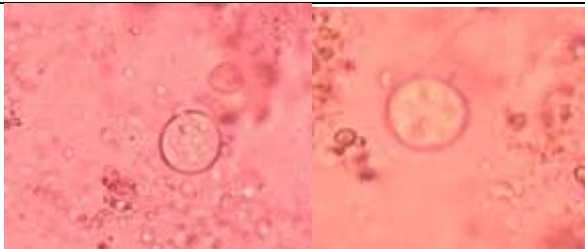

## Laboratorio de Parasitología de la Universidad de Cuenca

Fecha: 07/02/2018

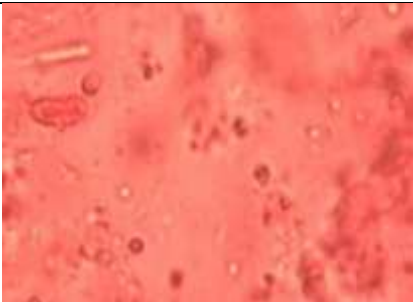
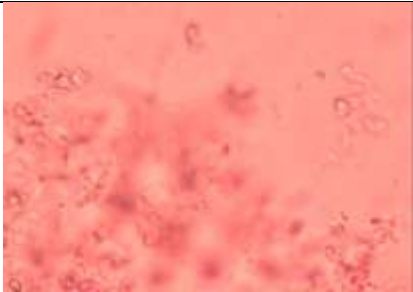
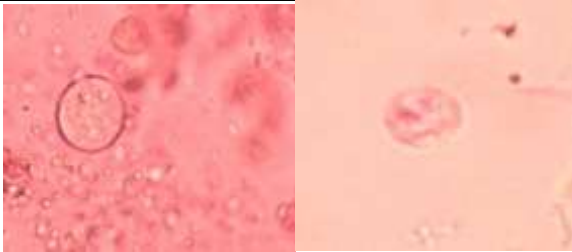
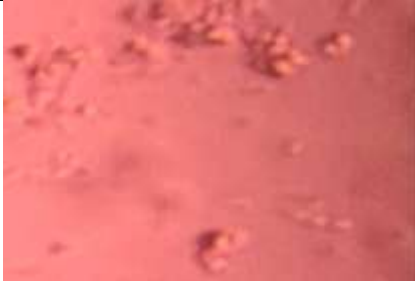
Quillay, J. (2018)

## Observación realizada en el bioensayo

**Tabla 8.** Fotografías de los resultados de extractos vegetales como antiamebianos

<i>Ocimum basilicum</i> (albahaca) – Extracto metanólico (100 mg/mL)	
 <p>Presencia de quistes de <i>Entamoeba coli</i> y <i>Entamoeba histolytica</i> a las 24 horas de siembra. Observado a 40 X</p>	 <p>Ausencia de estructuras parásitas celulares a las 48 y 72 horas de siembra. Observado a 40 X</p>



<i>Peperomia inaequifolia</i> (congona) – Extracto diclorometánico (100 mg/mL)	
 <p>Ausencia de estructuras parásitas celulares a las 24, 48 y 72 horas de siembra. Observado a 40 X</p>	
<i>Chenopodium ambrosioides</i> (paico) – Extracto metanólico (100 mg/mL)	
 <p>Ausencia de estructuras parásitas celulares a las 24, 48 y 72 horas de siembra. Observado a 40 X</p>	
<i>Artemisia absinthium</i> (ajenojo) – Extracto diclorometánico (100 mg/mL)	
 <p>Presencia de quistes de <i>Entamoeba coli</i> y <i>Entamoeba histolytica</i> a las 24 horas de siembra. Observado a 40 X</p>	 <p>Ausencia de estructuras parásitas celulares a las 48 y 72 horas de siembra. Observado a 40 X</p>

Laboratorio de Parasitología de la Universidad de Cuenca

Quillay, J. (2018)